

虫草菌感染虫草蝠蛾幼虫的研究^{*}

杨跃雄 杨大荣 沈发荣 董大志

(中国科学院昆明动物研究所)

摘 要

本文叙述了虫草菌在自然条件下感染虫草蝠蛾幼虫的过程和特性, 主要包括自然感染的虫龄和影响感染的生态因子。

关键词: 虫草蝠蛾幼虫, 虫草菌, 感染

冬虫夏草是我国特有的传统名贵中药材, 主产于云南、西藏、四川、青海等省、区的高原地带。它是虫草菌 *Cordyceps sinensis* (Berkely) Sacc. 感染鳞翅目中的蝠蛾属 *Hepialus* 幼虫形成的虫菌结合体。有关该寄主昆虫的生物学, 曾有人进行过研究(朱弘复, 1965、1985; 陈泰鲁, 1973)。有关虫草菌感染寄主的机理, 则尚未见报道。

研究其感染, 可进而寻求人工培育冬虫夏草的方法, 以解决药源之不足。为使研究结果较为客观可靠, 作者在对白马雪山的虫草自然分布区进行长期定点观察研究的同时, 在海拔3950米处建立了一个实验基地, 进行人工饲养与感染率统计, 结果如下。

自然感染的虫龄

我们于1985、1986年在虫草分布区(海拔3800~4700米)按不同的坡向、海拔及土壤性状选择样地进行长期定点观察, 观察中发现, 自然感染的发生与幼虫本身的龄期、感染季节均有密切关系。

1. 发生感染的龄期和场所

虫草蝠蛾幼虫是在土壤中与虫草菌孢子接触而被感染致死, 次年长出子实体即冬虫夏草。以4~5龄期幼虫感染率最高(约占90%左右)。其中绝大多数是处于刚蜕去旧表皮、新表皮尚属初生阶段的幼虫。老熟6龄幼虫很少有被感染的, 3龄以下幼虫不被感染。

观察结果表明, 能感染寄主的虫草菌, 必须是成熟的有性生殖孢子(或称次级孢

^{*} 国家自然科学基金资助项目。

尚有本所龙勇威、德钦科委的喻润清、鲁白、春生、都吉等同志参加野外工作, 谨致谢意。

本文1987年5月18日收到, 1988年11月5日修回。

子)。虫草子实体成熟后,在子囊壳内形成许多圆筒形的子囊,内藏有子囊孢子。成熟子囊孢子有许多隔膜,放出后分成许多构成细胞(亦称有性生殖孢子)。它们从虫草子实体弹出后,随雨水渗入土壤中。此时如能附着于适龄寄主昆虫皮肤,即膨大成圆形,伸出芽管,侵入寄主体腔内形成菌丝,成为圆筒形的菌丝段。随着寄主体液在体内循环,并以出芽法反复增殖,充满于整个体腔。这个时期寄主的柔组织被破坏,寄主因以死亡。2~3周后寄主体腔被坚硬的菌丝块(亦称菌核)所充塞,形成僵硬的虫体,并以此形态越冬,次年土壤解冻后即长出子实体。

降雨与以上感染有密切关系。虫草子实体成熟后,弹出的有性生殖孢子散落于地表,藉雨水渗入土壤中萌发,其存活期约15~18天左右。在此期间如遇有适龄幼虫与之接触即有可能被感染,因而自然感染多发生在雨季。据观察:幼虫分布的坡向及感染性状均对感染有影响。其中以东坡向及东南向坡面、土壤孔隙性好,并含有大量碎石块的地方感染率最高,虫草生长密度亦最大。而幼虫的分布密度与坡向的关系则是西北>东南>西>东北及东>南坡向(杨大荣等,1987)。

2. 自然感染率和感染适期

了解幼虫发生感染的适龄期后,在虫草菌有性生殖孢子成熟季节内(6月上旬至9月上旬之间),每10天采集一次自然生长的感染适龄幼虫,按20头/平方米的密度,并按不同的采集期分组饲养在基地内,待被感染的幼虫完全僵死后进行统计,推算出不同时期的自然感染率。结果见表1:

表1 自然感染率和感染适期

项目	六月			七月			八月			九月		
	上旬	中旬	下旬	上旬	中旬	下旬	上旬	中旬	下旬	上旬	中旬	下旬
总数	462	398	546	532	603	567	482	551	612	408	412	316
蜕皮数	126	98	32	16	28	98	216	284	108	42	11	3
死亡数*	21	16	18	23	21	24	23	32	51	49	23	11
感染数	0	0	0	0	16	26	33	56	33	5	0	0
感染率(%)	0	0	0	0	2.6	4.6	6.8	10.2	5.4	1.2	0	0

*注:指虫草菌感染以外的因素造成的死亡。

从表1可看出,7月中旬为自然感染的始见期出现少数感染,以后逐渐增加,8月上、中旬为感染高峰期。同时表中还显示:感染高峰期亦正是幼虫的蜕皮高峰期。

表中所列为白马雪山六个虫草分布区的平均自然感染率,有的饲养点感染率最高可达15%左右。幼虫被感染约6~10天后,食量减退或不取食,此时行动缓慢,数天后前胸和节间褶皱处可在解剖镜下见到少量菌丝体出现。感染后一般在15~25天内死亡,死亡前多爬行至2~5厘米浅土层处,头部向上,这有利于次年子实体的出生。

感染高峰期幼虫出现以下两种与感染有关的情况。

(1) 蜕皮:8月初4~5龄幼虫出现大量蜕皮现象。每条幼虫蜕皮后一般约经8~15天左右新表皮长成。在自然条件下,幼虫一年出现两次蜕皮高峰期:第一次在5月

上旬至6月上旬之间;第二次在7月下旬至8月下旬之间,全年最高峰是在8月上、中旬之间(表1)。4~5龄幼虫在此时期蜕皮的约占总数的65%。此时亦正是虫草菌成熟孢子散落入土的高峰期,显然有利于孢子对幼虫的感染。

(2) 活动和取食: 蜕皮期前后幼虫的活动和取食量增加,其多在夜间进行,白昼因土表温度升高而钻入深土层,行动随龄期的增大而越显活泼,扩散能力亦越强。蜕皮高峰期内幼虫在土壤中的分布情况见表2。

表2 蜕皮期内幼虫在土壤中的分布

时间	项目	土层深度 (厘米)	三 龄 幼 虫			四~五龄幼虫			蜕皮期四~五龄幼虫		
			总数	分布	%	总数	分布	%	总数	分布	%
下/V-中/V*	(1985)	1—5		38	10.6		2	0.6		18	3.8
		6—10		87	24.2		11	3.7		45	9.7
		11—15		146	40.7		38	9.4		68	14.7
			359			406			464		
		16—20		72	20.4		72	17.8		87	18.8
		21—25		14	3.9		121	29.9		132	28.4
		26—30		2	0.6		143	35.3		93	20.0
上/V—下/V*	(1985)	31—40		0	0		18	4.4		21	4.5
		1—5		28	8.6		0	0		9	2.3
		6—10		83	25.4		12	2.8		32	8.1
		11—15		135	41.3		36	8.1		67	16.9
			327			433			396		
		16—20		64	19.6		68	15.7		85	21.5
		21—25		16	4.9		142	32.5		114	28.8
		26—30		1	0.3		162	37.4		65	16.4
		31—40		0	0		13	3.0		24	6.1

*注: 旬/月(年)

表2显示: 幼虫的扩散面是4~5龄蜕皮幼虫较3龄以下幼虫为大。8月份蜕皮期4~5龄幼虫分布范围最广,各土层均有分布。

此外,幼虫取食量增加,也是导致其活动增强的因素。在自然条件下,幼虫一般10月份进入冬眠。因而在8月份该虫的取食量最多,以增加虫体内的脂肪利于越冬,故活动范围增大。观察幼虫食量: 在感染高峰期内各龄期幼虫食量均有增加,其中以4~5龄虫食量最大,约占总食量的62~78%左右。由于取食活动范围增加,也增加了与土壤中虫草菌孢子的接触机会。

据观察: 蜕皮期4~5龄幼虫,平均每分钟可爬行24.8厘米,最长可达41.6厘米;不蜕皮时平均爬行18.4厘米,最长为32.8厘米;3龄下虫平均8.6厘米,最长不超过14.8厘米。

综上所述,幼虫的感染适期是: 每年的8月上、中旬之间,此时正当幼虫发育至4~5龄期,且正处于蜕皮时间。

影响感染的生态因子

(1) 土壤结构

适宜虫草生长的高山草甸土壤多呈黑褐色,微团聚体间的联结较为疏松,孔隙性好,并混有大量大小不一的碎石块,虫草菌孢子因雨水而易于浸入土壤。该地土壤的含水量,常年多在30~50%之间,并普遍有厚约10~30厘米的腐植质层,有机质含量高达8~20% (杨大荣等,1987)。有利于虫草菌在土壤中萌发以感染寄主。

(2) 感染适期内的土壤温湿度

观察资料表明,虫草分布区内10厘米以下土层的温度日变幅度不大,10厘米以上则因高原气候多变的影响而变化显著,因而幼虫多分布在15~35厘米的土层中。

土壤温湿度对该虫的取食活动、生长发育等有显著的影响。1986年5~9月份我们对虫草分布较为集中的海拔4300米的白马雪山丫口进行了地温、湿度测量(10~25厘米土层),测含水量的土样取自15厘米深处。结果表明,第一次蜕皮高峰期间(5月下旬至6月中旬)的土温在5.6~8.6℃之间;第二次蜕皮高峰期(8月上旬至下旬)在6.5~9.2℃之间。室内观察结果亦表明,幼虫的最适生长温度是6~12℃之间。此外,两次蜕皮高峰期的土壤含水量均在40%~46%之间(全年的含水量约在32%左右),此时降雨量大,8月份尤甚,有利于虫草菌孢子渗入土壤,并在高湿环境中萌发。

(3) 感染适期内的大气温度

8月上、中旬,大气温度在-1.5~16.2℃间,平均8.5℃左右(海拔4300米所测)。此期间的日温差变化幅度大,平均为12.8℃左右,地温变化幅度亦相对增大,幼虫随着温度变化上下转移的频率亦随之增加,因而与虫草菌孢子接触的机会亦相对增多。

小 结

综前所述,幼虫的蜕皮、取食活动和土壤的温湿度均对感染有显著的影响。只有4~5龄蜕皮期幼虫最易被感染。蜕皮期和虫草菌孢子在土壤中的存活期都较短(均为15天左右)但在自然条件下,二者的发生基本上都在同一段时间,因此自然感染率高。

在6月中、下旬,大量的虫草菌子实体长出地面,7月下旬大部分成熟。这时虫草菌核部分开始腐烂,由子座弹射出的孢子扩散入土。此时正值雨季,孢子随雨水渗入土壤,此时,是虫草蝠蛾幼虫自然感染发生的高峰期。

土壤的温湿度,对虫草蝠蛾幼虫的生长发育和取食活动有很大的影响。室内观察到的最适生长温度,与自然感染高峰期内记录的土温(10~25厘米土层)基本接近,此时幼虫取食活动活跃,与虫草菌孢子接触感染的机会增多。幼虫对温度变化较敏感,适应范围小,室内饲养观察最适温度为6~12℃,短时期内温度变化范围超过约5℃即可造成不适,甚至停止活动和取食。虫草生长于高寒山区,昼夜气温变化幅度大,土表温度亦随之变化。因而幼虫有明显的昼夜垂直转移现象。

参 考 文 献

- 朱弘复等 1965 冬虫夏草的寄主昆虫是虫草蝙蝠蛾。昆虫学报 14(6):620~621
- 朱弘复等 1985 冬虫夏草与蝙蝠蛾。动物学集刊 3:121~134。
- 陈泰鲁等 1973 虫草蝙蝠蛾 *Hepialus armoricanus* Oertli 生物学的初步研究。昆虫学报 16(2):198~202。
- 杨大荣等 1987 云南虫草蝙蝠蛾的生物学研究 I. 区域分布和生态地理分布。动物学研究 8(1):1~10。
- 杨跃雄等 1987 关于虫草的药理、药化研究概况和展望。资源昆虫 2(4):28~32。
- 杨跃雄等 1987 冬虫夏草及其寄主昆虫, 人工培养虫草菌丝体中微量元素的分析。中草药 17(6):19~21。
- Downing, R. F. et al. 1976 Insect bacteriolytic enzymes- I. Some physical and enzymatic properties of lysozyme from haemolymph of *Galleria Mellonella*. *Comp. Biochem. Physical.* 55B:221-228。
- Qu Xian-ming (屈贤铭) et al. 1982 Insect immunity: isolation and structure of Cecropins B and D from pupae of the Chinese Oak Silk Moth, *Antheraea pernyi*. *Eur. J. Biochem.* 127:219-224。
- Wyatt, G. R. 1978 Insect plasma proteins. *Ann. Rev. Biochem.* 47:783-789。

STUDIES ON HEPIALID LARVAE FOR BEING INFECTED BY CHINESE "INSECT HERB" FUNGUS (CORDYCEPS SINENSIS)

Yang Yaoxiong Yang Darong Shen Farong Dong Dazhi

(*Kunming Institute of Zoology Academia Sinica*)

This paper reported the suitable season and canal for the ghost moths' larvae to be infected by Chinese "insect herb" fungus. The results derived from ecological observation showed that the larvae of the ghost moths' were infected from the middle of July to the end of August in nature and this period is the peaks for the larvae to shed skin. The fourth and fifth instar larvae were the most suitable to be infected. And the larvae below third instar were not suitable for infection.

Key words: Larvae of ghost moths, Chinese "Insect Herb" fungus, Infection.